FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1920. — THÈSE N° 2.

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PRÉSENTÉE PAR

Edmond PELBOIS

Préparateur à la Faculté de Médecine de Strasbourg
Licencié ès sciences
Ex-interne provisoire de Saint-Lazare
Ex-externe des hôpitaux de Paris

ÉTUDE

DE LA

LOI D'ACTION DE L'AMYLASE
SUR L'AMIDON
AU DÉBUT DE LA REACTION

Travail de l'Institut de Pharmacodynamie
et de Médecine expérimentale de la Faculté de Médecine de Strasbourg

Président : M. L. AMBARD, professeur

STRASBOURG
F. X. LE ROUX & Cie, Imprimeurs-Editeurs
1920

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1920. — THÈSE — N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PRÉSENTÉE PAR

Edmond PELBOIS

Préparateur à la Faculté de Médecine de Strasbourg
Licencié ès sciences
Ex-interne provisoire de Saint-Lazare
Ex-externe des hôpitaux de Paris

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

ÉTUDE

DE LA

LOI D'ACTION DE L'AMYLASE
SUR L'AMIDON
AU DÉBUT DE LA RÉACTION

Travail de l'Institut de Pharmacodynamie
et de Médecine expérimentale de la Faculté de Médecine de Strasbourg

Président : M. L. AMBARD, professeur

STRASBOURG
F. X. LE ROUX & Cie, Imprimeurs-Éditeurs
1920

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen		M. WEISS
Assesseur		» BOUIN
Embryologie	Professeurs:	MM. ANCEL
Anatomie	»	FORSTER
Histologie	»	BOUIN
Physiologie	»	MEYER
Physique biologique	»	WEISS
Chimie physiologique	»	NICLOUX
Anatomie pathologique	»	MASSON
Pharmacologie, médecine expérimentale	»	AMBARD
Hygiène, Bactériologie	»	BORREL
Médecine légale	»	CHAVIGNY
Clinique médicale	»	BARD
» »	»	BLUM, Léon
» chirurgicale	»	SENCERT
» »	»	STOLZ
» ophtalmologique	»	DUVERGER
» dermatologique	»	PAUTRIER
» psychiatrique	»	PFERSDORFT
» neurologique	»	BARRÉ
» oto-rhino-laringogique	»	BALDENWEC[illegible]
» gynécologique et accouchements	»	SCHICKELÉ

Chargés de Cours:

MM. ARON, Max	MM. HANNS	MM. ROHMER
BELLOCQ	HUGEL	SCHWARTZ
BLUM	KELLER	STROHL
GUNSETT	LICKTEIG	VAUCHER
HAMM	REEB	WEILL
ADRIAN	GELMA	GERY
DUFOURT	SCHÆFFER	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinons émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mon Maître et Président de thèse:

Monsieur le Professeur **AMBARD**

Professeur de Pharmacodynamie et de Médecine expérimentale
à la Faculté de Médecine de Strasbourg

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548023_0055

A mes Maîtres dans les hôpitaux de Paris:

Monsieur le professeur agrégé RICARD, chirurgien des hôpitaux,

» le docteur LABEY, chirurgien des hôpitaux,

» le docteur ROCHARD, chirurgien des hôpitaux,

» le professeur ACHARD, médecin des hôpitaux,

» le docteur HIRTZ, (in mémoriam), médecin des hôpitaux,

» le docteur MOUTARD-MARTIN, médecin des hôpitaux,

» le docteur DARIER, médecin des hôpitaux,

» le docteur GANDY, médecin des hôpitaux,

» le docteur RAMOND, médecin des hôpitaux,

» le docteur BAUDOIN, médecin des hôpitaux.

A Messieurs les docteurs:

Pierre-Jean MÉNARD, DENIKER et CIVATTE.

A Monsieur le professeur agrégé ROUVIÈRE, chef des travaux d'anatomie à la Faculté de médecine de Paris.

A Monsieur le professeur VALOIS, professeur de clinique obstétricale à la Faculté de médecine de Montpellier.

A mes Maîtres de la Faculté de médecine de Strasbourg.

A mes chefs pendant la guerre:

Monsieur le médecin-major de 2e classe LEFÈVRE,

» le médecin-major de 1re classe CAPDEVIELLE,

» le médecin-aide-major PICOT, chirurgien des hôpitaux de Paris,

» le médecin-major de 2e classe JOB.

ETUDE
DE LA
LOI D'ACTION DE L'AMYLASE SUR L'AMIDON
AU DÉBUT DE LA RÉACTION

(Travail de l'Institut de Pharmacodynamie et de Médecine expérimentale de la Faculté de Médecine de Strasbourg.)

PRÉFACE.

Mon maître, Monsieur le Professeur AMBARD[1]*), fut l'instigateur et conseiller de tous instants et le directeur de ces recherches. A lui, ma dette scientifique.*

A lui, surtout, ma dette d'amitié respectueuse et de reconnaissance.

Je tiens à remercier, de leur aide précieuse, Mesdemoiselles M. BRICKA et GOLDSCHMITH, qui collaborèrent à la plupart de nos expériences.

E. PELBOIS.

[1]) Similitude de l'hydrolyse du sucre par les acides et de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase. — Étude du mécanisme de certaines réactions monomoléculaires.

Par L. AMBARD, E. PELBOIS et Mlle M. BRICKA. (*Bulletin de la Société de chimie biologique : de janvier-février 1920*).

Le désir d'établir une technique précise du dosage de l'amylase, dans les liquides de l'organisme, nous a inspiré ce travail. En essayant de pratiquer empiriquement ces dosages, nous nous sommes bien vite rendu compte des difficultés ; ce qui nous a amenés à reprendre l'étude théorique de la loi d'action des ferments en général, et de l'amylase salivaire, en particulier.

Pour résumer nos recherches, nous ferons un double exposé, premièrement, de la question théorique, et secondement, de la question pratique, à laquelle mène la première.

I.

Étude théorique de la loi d'action de l'amylase.

En tant que ferment, c'est-à-dire, catalyseur, l'amylase doit obéir à la loi de VANT'HOFF, qui avait montré que les actions catalytiques étaient réglées par la loi de GULDBERG et WAAGE (1867) ou loi des masses.

Pour comprendre cette loi, il faut se rappeler que dans une digestion amylolytique, comme dans toute action fermentaire, nous nous trouvons en présence, dès que la digestion est amorcée, de deux phénomènes antagonistes :

a) d'abord, l'action hydrolysante du ferment ; dans le cas de la digestion amylolytique, c'est la transformation de l'hydrate de carbone en maltose. Nous appellerons ce phénomène, l'action analytique ;

b) en même temps, se développe un second phénomène, inverse du premier. Depuis longtemps, on sait que du maltose, ajouté à de l'amidon, retarde l'action analytique du ferment (CROFT HILL, Reversibilité de l'action de la maltase[1]). Cette action retardante a été interprétée comme une manifestation de la tendance du ferment de recombiner le maltose, en le transformant en amidon primitif.

[1]) A. CROFT HILL: Journal of the chem. Soc. (Août 1898 page 634.

Si, d'une façon générale, un ferment dissocie, en majeure partie, l'élément sur lequel il agit, ce résultat semble dû à ce que l'action analytique est, au point de vue absolu, plus forte que l'action synthétique.

L'application de la loi de VANT'HOFF, qui permet d'écrire une réaction d'hydrolyse fermentaire comme une réaction réversible, nous explique pourquoi, pour une certaine proportion de substance hydrolysée, l'hydrolyse s'arrête. Toute équation de la loi d'action d'un ferment est donc double. Par conséquent, la vitesse d'hydrolyse de l'amidon par l'amylase sera égale à l'activité analytique du ferment multipliée par la concentration de l'hydrate de carbone hydrolysable, diminuée du produit de l'activité synthétique du ferment par la concentration des produits d'hydrolyse.

Jusqu'ici on n'a pas pu calculer une formule complète, de façon satisfaisante, parce qu'il reste des inconnues dans le premier élément de l'équation, et surtout parce que nous savons très mal déterminer la valeur des termes du deuxième élément.

L'action synthétique étant pratiquement nulle, quand la digestion ne dépasse pas 10%, remarque faite depuis longtemps, on peut aborder isolément l'étude du premier élément de l'équation de l'hydrolyse amylolytique.

C'est à cette étude que nous nous bornerons.

Ainsi simplifiée, la loi d'action des ferments peut s'écrire, d'après VANT HOFF :

$$\varphi = k\ (C_1 \times C_2),$$

où φ = vitesse d'hydrolyse,

k = constante, dépendant des conditions de l'expérience,

C_1 = la concentration de l'hydrate de carbone, que nous préciserons,

C_2 = la concentration du ferment.

Lorsqu'on contrôle expérimentalement cette formule, on se rend compte que les faits la vérifient très exactement, pour ce qui concerne le rôle du ferment; au contraire, presque jamais, pour ce qui concerne le rôle de l'hydrate de carbone. Il y avait donc un problème théorique à résoudre pour essayer de faire rentrer les exceptions apparentes du deuxième cas dans le cadre de la loi des masses.

Nous vérifierons tout d'abord avec quelle approximation on peut mettre en valeur une proportionnalité entre la concentration du ferment et les vitesses d'hydrolyse. De ces recherches va dépendre le point de départ de l'interprétation des faits ultérieurement établis.

A. *Rôle de la concentration du ferment.*

C'est le facteur le plus facile à étudier. De nombreux travaux sur ce sujet, se sont succédés, depuis que PASCHUTIN, suivi par O'SULLIVAN et TOMPSON, eut donné la première démonstration d'une proportionnalité, à peu près exacte, entre les quantités de diastase, et les vitesses d'hydrolyse, dans un même temps.

Cette proportionnalité, nous l'avons, après tant d'autres, vérifiée, en utilisant l'amylase de la salive.

Soit une digestion qui porte sur le mélange suivant : 10 cmc. d'empois d'amidon de maïs, soigneusement lavé, à 2%, additionné de 1 cmc. de NaCl à 5% et de 4 cmc. d'eau ; à quoi on ajoute, un cmc. de salive, dialysée, de dilutions variées.

Le tout est porté au thermostat à 35° ; on dose le sucre réducteur sur la totalité du mélange.

TABLEAU I.

Salive diluée à :	Durée de l'hydrolyse :	Sucre produit exprimé en milligr. de glucose :	Sucre recalculé pour une digestion d'une heure :	Concentrations relatives du ferment :
$\frac{1}{128}$	6 heures	5,5	0,92	1
$\frac{1}{64}$	2 »	3,3	1,65	2
$\frac{1}{32}$	2 »	8,0	4,00	4
$\frac{1}{8}$	40 minutes	10,5	15,90	16

En admettant comme un fait bien établi qu'au début de la réaction, toutes choses égales d'ailleurs, les vitesses d'hydrolyse sont proportionnelles au temps, on voit que, pour des concentrations de ferment, variant comme 1, 2, 4 et 16, φ a varié comme 0,92 ; 1,65 ; 4,0 ; 15,90.

De cette expérience, il ressort nettement que φ est directement proportionnel à la concentration du ferment, c'est-à-dire à C_2. Quand les concentrations respectives de l'amidon et de l'électrolyte restent fixes, tandis que le ferment varie, la loi des masses se vérifie. C'est là le point nodal de notre thèse ; c'est cette constatation qui permettra de doser un ferment.

B. *Rôle de la concentration de l'amidon.*

Etablissons, maintenant, les conditions d'expérience, de telle façon que le ferment et l'électrolyte restent constants, pendant que, seule, la concentration de l'amidon varie. Dans ce cas, le facteur C_1, dans $\varphi = k\ (C_1 \times C_2)$, est d'une interprétation délicate.

En effet, quand on fait parallèlement des hydrolyses, dans lesquelles les concentrations de l'amidon ont varié de 1% à 2% et à 4%, toutes choses étant égales, sous le rapport du ferment, de l'électrolyte, de la température et du temps, les quantités de sucre obtenu sont entre elles comme : 15,65 ; 18,5 ; 20,5 ; en milligrammes de glucose. Soit une différence de 48 milligr. de glucose pour 100 cm³ d'empois.

Ce phénomène se retrouve régulièrement. Voici une autre expérience : l'empois varie de 1% à 2% et 4% ; comme précédemment, tous les autres facteurs sont constants, mais le ferment est moins actif. Les quantités de sucre obtenu, dans le même temps, à la même température, varient comme 7,0 ; 7,55 ; 8,7. Soit une différence de 17 milligr. de glucose pour 100 cm³ d'empois.

Nous trouvons donc que le rôle de la concentration de l'amidon est très net, du moins jusqu'à 4%. Ajoutons que ces faits sont admis par presque tous les auteurs, sauf Duclaux, Dubourg[1]) dont l'opinion ne nous arrêtera pas.

Les expériences citées plus haut, prouvent que φ augmente avec la concentration de l'amidon, mais beaucoup moins vite que cette concentration : fait en opposition formelle avec la proportionnalité si nette, constatée entre les vitesses d'hydrolyse et la concentration du ferment. On comprend alors mal comment $\varphi = k\ (C_1 \times C_2)$ est vérifiable, quand tous les facteurs restent fixes, sauf C_1.

---

[1]) Duclaux : Traité de Microbiologie, tome II, Paris, 1899.

C'est pour interpréter la valeur de C_1, de façon qu'elle permette de rester d'accord avec la loi des masses, que M. le professeur AMBARD a proposé l'explication, qui va suivre.

Il fait un parallèle entre l'action hydrolysante des acides et celle des ferments, et transporte au cas de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase salivaire, la théorie qu'ARRHÉNIUS avait proposée dans le cas de l'hydrolyse par les acides, en 1889.

ARRHÉNIUS entendait par C_1, dans l'hydrolyse par les acides, non pas tout l'hydrate de carbone, mais seulement une partie, sensibilisée par la présence d'un électrolyte.

Or, on sait qu'un sel neutre active aussi bien une hydrolyse par un ferment qu'une hydrolyse par un acide.

C. *Rôle qualitatif des électrolytes, comme adjuvants de l'hydrolyse.*

Soit un mélange d'HCl et de sucre de canne, porté à une température donnée, à laquelle on observe une vitesse d'inversion, φ_1. Qu'au mélange précité on ajoute une petite quantité de NaCl, on observe une nouvelle vitesse d'inversion, φ_2, et on a $\varphi_2 > \varphi_1$. Ce phénomène a été observé par SPOHR[1]) et confirmé par ARRHÉNIUS et d'autres. Or l'addition de NaCl à HCl ressocie une partie des ions H^+ et, de ce fait, la vitesse d'inversion, φ_2, devrait être plus petite que φ_1, si elle dépendait uniquement de la concentration des ions H^+. Nous observons l'inverse, et c'est NaCl qui détermine ce phénomène.

Soit aussi un mélange d'empois d'amidon, débarrassé de sel, et d'amylase également exempte de sel ; on n'observe pas d'hydrolyse. Ajoutons NaCl et l'hydrolyse apparaît. (V. HENRI, GIAJA et BIERRY[2], confirmés par d'autres auteurs.)

On peut, de ces faits, conclure que NaCl joue, au moins, un rôle adjuvant dans l'hydrolyse acide, et un rôle fondamental dans l'hydrolyse fermentaire.

---

[1]) J. SPOHR. Über den Einfluss der Neutralsalze bei chemischen Reaktionen (Zeitsch. für Physik, Chemie, II, 4 1888, pp. 194 à 218).

[2]) V. HENRI, GIAJA et BIERRY: Inactivité amylolytique du suc pancréatique dialysé. (Comptes rendus de la Société de Biologie, 1906, I, page 479).

Mais l'électrolyte agit-il sur le catalyseur ou sur l'hydrate de carbone. Dans le cas de l'hydrolyse par un acide, cette question est tranchée par ARRHÉNIUS. Il observe que NaCl ressocie les ions H^+ libres ; ce qui devrait faire diminuer la vitesse d'inversion. Or, tout au contraire, elle augmente ; il faut donc que l'électrolyte, qui n'agit pas en augmentant le nombre des ions H^+, agisse sur l'autre élément de la réaction, l'hydrate de carbone, en le sensibilisant.

Dans l'hydrolyse fermentaire, on admet généralement que l'électrolyte active le ferment. Or, nous pensons que, contrairement à cette opinion, là encore, l'électrolyte sensibilise l'hydrate de carbone.

ARRHÉNIUS explique ainsi le mode d'action d'un électrolyte sur un hydrate de carbone, dans l'hydrolyse par un acide : du sucre en solution dans un milieu contenant un électrolyte, doit s'y trouver sous deux états. Une partie est inattaquable par l'acide, et l'autre partie, au contraire, sera attaquée, c'est la partie sensibilisée par l'électrolyte. Détruite, elle sera remplacée par une portion de ce qui, précédemment ne jouait aucun rôle, et ainsi de suite. Du sucre, en solution, serait donc sous deux états distincts, non seulement par suite de sa dissolution dans l'eau, mais par suite de la présence d'un ou de plusieurs sels. C'est par analogie avec cette hypothèse d'ARRHÉNIUS que M. le professeur AMBARD et nous-mêmes, après lui, avons cherché à interpréter l'activation de l'hydrolyse fermentaire.

Nous avons dit, plus haut, que nous avions, nous aussi vérifié que, toutes choses égales d'ailleurs, la vitesse d'hydrolyse était proportionnelle à la concentration du ferment dans le milieu. Pour que cette condition «toutes choses égales d'ailleurs» soit respectée, il importe que le ferment soit rigoureusement exempt d'électrolyte, sans quoi, à chaque apport de ferment, la quantité d'électrolyte serait, elle aussi, augmentée ; ce qui modifierait les acteurs que nous considérons comme fixes dans l'expérience.

Lavons complètement de l'amidon et dialysons à fond de la salive. Faisons un empois d'amidon à 2%, mettons-le en présence de salive dialysée, à température convenable. Si la dialyse a été suffisante, nous n'observerons qu'une quantité de sucre formé, nulle ou très faible. — Qu'à 10 cm^3 de ce mélange, nous ajoutions

un cm³ d'une solution de NaCl à 5°/₀₀ et nous aurons une quantité de sucre appréciable. Ce phénomène est bien connu et facilement vérifiable.

Répétons cette expérience en série, en maintenant fixe la concentration de l'empois, celle de l'électrolyte, et en ne faisant varier que les quantités du ferment ; chaque mélange sera complété par une masse d'H^2O, qui maintienne tous les volumes égaux. Dans ces conditions, nous remarquerons que les vitesses d'hydrolyse sont assez rigoureusement proportionnelles aux concentrations du ferment. Le tableau récapitulatif de ces expériences est le tableau I de la page 13.

Nous insistons sur le fait que le ferment peut être considéré comme pur, exempt d'électrolyte.

Car il n'en est plus de même, si nous employons de la salive non dialysée. A de l'empois d'amidon à 2%, rigoureusement avé. ajoutons des quantités, progressivement croissantes de salive brute, filtrée, diluée, mais contenant toujours ses sels. Nous employons le même empois que précédemment, les mêmes quantités. La digestion est faite, dans les mêmes conditions, à 35°. Nous n'ajoutons pas la solution de NaCl à 5°/₀₀. Le sucre est dosé sur la totalité du mélange.

TABLEAU II.

1 cm³ de salive diluée à :	Durée de l'hydrolyse	Sucre produit exprimé en milligr.	Sucre produit en 1 heure	Concentrations relatives du ferment
$\frac{1}{32}$	4 heures	1,6	0,4	1
$\frac{1}{16}$	2 »	3,3	1,6	2
$\frac{1}{8}$	1 »	4,6	4,6	4
$\frac{1}{4}$	20 minutes	6,8	20,4	8
$\frac{1}{2}$	11 »	12,4	67,6	16

Il est aisé de remarquer que, dans ce cas, les vitesses d'hydrolyse sont proportionnelles aux carrés des concentrations du ferment.

Comment pourrons-nous expliquer cela?

Nous savons qu'une quantité fixe de NaCl, (1 cm³ à 5°/₀₀), dans les expériences du tableau I, agit sur les conditions de l'hydrolyse d'une façon telle que, si le ferment dialysé est augmenté dans les proportions de 1, 2, 3, les quantités de sucre formé croissent comme 1, 2 et 3. Donc, une fois pour toutes, NaCl, dans cette série d'expériences, a déterminé un phénomène, qui ne variera pas au cours de la série, puisque la seule variable est la proportionnalité simple entre le ferment et le sucre formé. A côté de NaCl, le facteur invariable est l'hydrate de carbone. Il est assez séduisant de penser que les deux facteurs invariables, sel et amidon, ont, dès le début de la série, combiné, l'un par rapport à l'autre, ce qui, dans l'expérience, ne doit pas bouger. Ne serait-ce que cette déduction, nous sommes attirés vers l'hypothèse d'une action de l'électrolyte sur l'hydrate de carbone, sur le facteur C_1.

D'ailleurs il est entendu et prouvé que, sans sel, pas d'hydrolyse ; nous montrerons, pas la suite, que, plus on augmente la quantité d'électrolyte, jusqu'à un certain maximum, plus la vitesse d'hydrolyse est rapide. Ce fait est connu, nous le préciserons encore. — Or, dans les expériences du tableau II, nous nous sommes servis de salive non dialysée, contenant, par conséquent, ses sels. A chaque apport de salive, croissant comme 1, 2 et 3, nous ajoutions à nos mélanges, d'abord 1. 2 et 3 unités de ferment, et aussi, fait important, 1, 2 et 3 unités de sels. Le ferment accroissait la vitesse d'hydrolyse dans le rapport de 1, 2 et 3, et les sels, si nous admettons qu'il sensibilisent l'amidon, accroissaient de leur côté la quantité d'amidon sensibilisé, dans les zones de concentrations salines, où nous nous sommes placés, dans le rapport, aussi, de 1, 2 et 3. Ce qui constituait à chaque apport, une augmentation du sucre produit proportionnelle à 1×1, 2×2, $3 \times 3 = 1, 4, 9$, autrement dit, aux carrés des concentrations de la salive, non exempte de sels. Nous insistons sur ces mots «dans les zônes de concentrations salines où nous nous sommes placés» ; car la proportionnalité n'existe que pour des concentrations faibles.

Ce raisonnement nous explique aisément pourquoi, dans le cas d'un ferment dialysé, nous observons des vitesses d'hydrolyse

proportionnelles à la quantité du ferment, toutes choses égales d'ailleurs ; alors que, dans le cas d'un ferment non dialysé, nous observons des vitesses d'hydrolyse proportionnelles aux carrés des concentrations du ferment.

Nous dirons donc que les sels neutres agissent sur la matière à hydrolyser et non sur le catalyseur.

Cette conception nous éclaire sur la manière d'interpréter la masse d'amidon qui entre en réaction. Cette masse, nous l'appellerons l'amidon sensibilisé par le sel neutre, ou «amidon actif».

Les partisans de l'activation du ferment par l'électrolyte pourrons nous objecter que les variations, en fonction du carré de la concentration du ferment, sont interprétables d'une autre façon.

Admettons, par exemple, qu'une unité d'électrolyte, apportée avec une unité de salive, soit capable de sensibiliser $\frac{1}{10}$ de cette salive, et non pas sa totalité. Quand nous ajouterons au milieu de réaction une deuxième unité de salive, non dialysée, nous apporterons, en même temps, d'abord une deuxième unité de ferment, et puis une deuxième unité d'électrolyte, qui sensibilisera pour son propre compte encore $\frac{1}{10}$ de la première unité, plus $\frac{1}{10}$ de la seconde unité de ferment, laquelle subira aussi la sensibilisation, que sera capable de lui fournir la première unité d'électrolyte. Chaque unité de ferment aurait donc subi une sensibilisation, deux fois plus importante, qui, multipliée par sa masse propre, rendrait compte de la présence de cette variation, en fonction du carré de la masse fermentaire, ajoutée au milieu de digestion.

Mais cette objection ne rend pas compte du tout de ce que nous voyons quand nous faisons varier la masse totale de l'empois d'amidon, en laissant fixes, d'une part l'électrolyte, d'autre part le ferment. Dans ces conditions, si l'électrolyte sensibilisait le ferment, en présence d'un empois à 1%, à 2%, à 4%, nous trouverions des valeurs de φ, variant entre elles comme 1, 2 et 4. Or nous trouvons, dans ce cas, des valeurs de φ qui varient suivant une courbe, ayant une allure parabolique, comme le montre le tableau suivant :

TABLEAU III.

Amidon à :	sucre formé 1re série	2e série	moyenne du sucre produit	variations de
4%	4,6	4,15	4,38	1,53
2%	4,05	3,90	3,98	1,43
1%	3,75	3,50	3,58	1,25
0,5%	2,85	2,85	2,85	1

Dans les expériences, exprimées par ce tableau, la concentration de NaCl du milieu est maintenue fixe et égale à $0{,}31°/_{00}$. Dans une première série, la salive ajoutée par 1 cm³ est au $\frac{1}{128}$, dans la deuxième série, cette même salive est au $\frac{1}{64}$. La digestion de la première série a duré quatre heures, celle de la seconde a duré deux heures; les deux séries sont donc comparables entre elles, puisque $\frac{1}{128} \times 4 = \frac{1}{64} \times 2$.

On peut voir que, pour des concentrations d'amidon, variant comme 1, 2, 4, 8, φ varie comme 1 ; 1,25 ; 1,43 ; 1,53, nombres, à l'aide desquels, on pourrait construire une courbe parabolique, en plateau très étalé.

Or cette courbe est analogue à celle que l'on obtient, quand amidon et ferment restent constants, tandis que la concentration de l'électrolyte varie, comme nous le verrons dans la suite.

Il existe donc une relation de forme entre les variations de φ, en fonction de concentrations différentes de l'empois d'amidon, comme, en fonction de concentrations différentes de l'électrolyte.

Ces deux phénomènes rappellent des phénomènes d'équilibre, bien connus en chimie-physique, tels que la précipitabilité d'un colloïde par un autre colloïde, d'un colloïde par un acide, etc....

Nous pensons donc que notre conception a l'avantage de relier par une même explication l'action des sels, dans l'hydrolyse par les acides, et, dans l'hydrolyse par les ferments, et de donner une explication applicable aux phénomènes relatés plus haut.

De plus, une voie est ouverte, qui permet de concevoir les désaccords, jusqu'alors existants, entre la formule des réactions monomoléculaires et les constatations expérimentales.

Dans $\varphi = k\ (C_1 \times C_2)$, la masse C_1 de l'hydrate de carbone, ne sera pas sa masse totale, mais seulement la masse sensibilisée par l'électrolyte, *«l'amidon actif»*, lequel, au cours de la digestion sera progressivement remplacé par une nouvelle masse active, sensibilisée par le même électrolyte.

Le tableau II nous montre que, par l'apport d'une unité de salive, nous aurons produit une unité d'amidon actif et φ sera égal à $k \times 1 \times 1 = k$; par l'apport de deux unités de salive, nous aurons produit deux unités d'amidon actif et φ sera égal à $k \times 2 \times 2 = 4k$, etc.

Ainsi interprétée, la loi des masses est en accord avec les résultats expérimentaux de tableau II.

Il faut que nous rappellions que l'hypothèse d'une action de l'électrolyte sur la masse à digérer avait été émise par Larguier des Bancels. En étudiant la digestion de l'albumine par le suc pancréatique pur, réputé inactif, parce qu'à lui seul il est incapable de digérer l'albumine, cet auteur eut l'idée de traiter cette dernière par des colorants et des sels divers, en essayant d'appliquer des procédés de mordançage de teinturerie. Il avait donc eu l'idée qu'on pouvait mordancer la substance à digérer. Delezenne, de son côté, avait vu qu'un cube d'albumine, imprégné de sels de calcium, puis lavé, était encore attaquable par le suc pancréatique. Mais était-ce une démonstration de la sensibilisation de l'albumine par les sels de calcium et ne pouvait-on objecter que, malgré le lavage, les cubes d'albumine conservaient assez de sels pour pouvoir ensuite les apporter au ferment comme agent activant.

D'ailleurs V. Henri et Wurmser[1], à propos d'une étude sur la Photocatalyse, étaient arrivés à concevoir qu'une action d'activation peut porter, non pas sur le ferment, mais sur le corps à transformer.

Telle est, au point de vue théorique, l'idée nouvelle que nous croyons introduire.

Cette étude théorique préliminaire était nécessaire pour nous permettre d'élucider certaines questions pratiques, sur lesquelles nous allons insister maintenant.

---

[1]) Victor Henry et Wurmser (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, tome 157, page 284, 28 juillet 1913).

II.

Étude pratique du dosage de l'amylase.

L'étude théorique précédente nous montre :

1° que, si nous maintenons C_1 (la masse de l'hydrate de carbone sensibilisé) fixe, la vitesse d'hydrolyse variera proportionnellement à C_2 (masse du ferment). D'où la possibilité de doser un ferment, en fonction de la vitesse d'hydrolyse, en présence d'un mélange : hydrate de carbone plus électrolyte, fixe ;

2° que, pour doser un ferment, il est nécessaire de mettre ce dernier dans les conditions optima d'action.

3° cette même étude nous permet d'induire qu'il doit exister des conditions optima de conservation du ferment.

Le but de notre étude pratique sera d'abord d'étudier la manière de ne pas nuire à la conservation du ferment. Nous chercherons ensuite les facteurs nécessaires au développement de son action optima, lors de son fonctionnement. Nous étudierons, enfin, quelques questions de technique : préparation de l'empois d'amidon, de la salive dialysée, dont nous nous sommes servis pour nos expériences ; dosage du sucre, produit, lors des hydrolyses fermentaires.

A. *Conservation du ferment.*

On sait d'abord, et nous ne nous y arrêterons pas, que nous devrons conserver le ferment à l'abri de la lumière. Cette précaution prise, il faudra :

1° chercher un milieu, qui lui soit favorable, quant à sa réaction ;

2° le maintenir à une température convenable ;

3° le préserver de la putréfaction, en lui ajoutant un corps antiseptique, qui ne le détruise pas.

1° Étude de l'action de la réaction du milieu sur la conservation du ferment.

On admet, d'une manière générale, qu'un excès d'acide ou d'alcali, autrement dit, d'ions H^+ ou OH^-, détruit le ferment. Nous avons cherché, comme suit, le milieu optimum.

Pour cette étude, nous avons préparé des mélanges de phosphate disodique à 11,87 °/₀₀ et de phosphate monopotassique à 9,07 °/₀₀, suivant la méthode indiquée par SÖRENSEN[1]). A ces mélanges, nous avons ajouté des quantités égales de salive dialysée : nous les avons portés au thermostat à 35°, pendant quinze heures. Au bout de ce temps, nous avons prélevé des quantités égales de chacun de ces mélanges et nous les avons portées pendant une heure, au thermostat à 35°, en présence de 10 cm³ d'empois d'amidon, contenant 0,5 °/₀₀ de NaCl et de réaction en $P_H^+ = -6{,}46$. Toutes les conditions de ces expériences étant les mêmes, sauf la provenance de la salive conservée pendant quinze heures dans des milieux de phosphates différents, les discordances des valeurs de φ seront donc sous la dépendance de l'état d'activité de cette salive — donc de sa conservation.

TABLEAU IV.

Réaction du milieu où l'amylase a séjourné 15 heures		Réaction du milieu exprimé en P_H^+, d'après SÖRENSEN	Φ
acide	1 : 32 000	— 4,49	0
	1 : 200 000	— 5,28	8
	1 : 1 250 000	— 6,10	9,3
	1 : 3 200 000	— 6,46	9,3
	1 : 6 200 000	— 6,81	8,4
neutre		— 7,07	8,5
alcalin	1 : 5 700 000	— 7,38	4,2
	1 : 2 300 000	— 7,73	0,15

On voit que le milieu acide qui conserve le mieux le ferment est aux environs de $P_H^+ = -6{,}46$.

Quant un milieu alcalin : $P_H^+ = -7{,}73$, il le détruit.

Cette noscivité des ions OH^- nous amène à attirer l'attention sur l'alcalinité du verre.

A la température du 35°, on porte 20 cm³ d'eau distillée, additionnée de dix gouttes d'acide rosolique, solution indiquée

[1]) S. P. L. SÖRENSEN : Über die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionen — konzentration bei biologischen Prozessen. (Ergebnisse der Physiologie. 1912, tome XII, pages 393-533.

par S. P. L. Sörensen[1]) dans trois tubes de verre, calibrés pour s'adapter au centrifugeur Jouan.

Trois autres de ces tubes sont remplis de 20 cm³ d'eau distillée, additionnée également de dix gouttes du même acide rosolique plus une goutte d'HCl $\frac{N}{100}$

Six heures après, les trois premiers tubes montrent une réaction alcaline nette, qui n'apparaît, dans les trois derniers, qu'au bout de vingt-quatre heures.

Nous avons comparé ces résultats avec ceux que donne de l'eau distillée, portée à la même température, de 35°, dans de petits vases de verre d'Iéna. Quatre de ces vases sont remplis, chacun, de 20 cm³ d'eau distillée, additionnée de dix gouttes d'acide rosolique de Sörensen. Au bout de quarante-huit heures, nous n'avons pas trouvé de modification appréciable de la réaction.

Mais, trois de ces vases d'Iéna reçoivent chacun 25 cm³ d'eau distillée, dont la réaction est très faiblement acide ($P\frac{+}{H} = -5{,}95$). Ils sont placés au bain-marie, à l'ébullition, pendant une demi-heure.

Après quoi, la réaction dans les trois vases est devenue très légèrement alcaline, vis-à-vis de l'acide rosolique.

Quoiqu'il en soit, on voit qu'à la température de 35°, pendant une heure, on a peu à tenir compte de l'alcalinité dégagée par les vases de verre d'Iéna.

De ces résultats, nous pouvons conclure qu'il y a intérêt, dans les études sur la diastase amylolytique, à se servir de vases de verre d'Iéna, ou de quartz.

Nous avons éliminé les vases de platine, à la suite d'expériences, dont nous allons parler, à propos de l'action de la température sur la conservation du ferment.

---

[1]) S. P. L. Sörensen · Études enzymatiques. II: Sur la mesure et l'importance de la concentration des ions H+ dans les réactions enzymatiques. · (Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg 8e vol., 1re livraison, Copenhague, 1909.)

2° Étude de l'action de la température sur la conservation du ferment.

A 35°, « in vitro », l'amylase salivaire commence à se détruire.

Après avoir été conservée dans du quartz, à 35°, pendant quarante heures, de la salive dialysée, diluée dans une solution tampon de phosphates ($P_H^+ = -6{,}46$), et additionnée d'un cristal de thymol, ne détermine, par cm³ qu'une vitesse d'hydrolyse, = 10,2 milligr. de glucose, en présence de 10 cm³ d'empois d'amidon soluble de riz à 2% dans la solution de phosphates ($P_H^+ = -6{,}46$), salée à $2°/_{oo}$, alors qu'un témoin, fait avec la même salive, mais conservée à la température du laboratoire (20°) donne φ = 15,8 milligr. Digestion d'une heure à 35°.

Après avoir été conservée dans du quartz à 36° pendant quarante heures, la même salive donne $\varphi = 9{,}35$. A 37°, dans les mêmes conditions $\varphi = 8{,}2$ milligr.

Et, si on prolonge la durée de la chauffe à ces températures, on trouve, au bout de cent douze heures, à 35°, $\varphi = 6{,}6$ milligr. — et à 36° $\varphi = 3{,}85$ milligr.

A des températures supérieures, 45°, 50°, la destruction du ferment s'opère encore plus rapidement. Le tableau suivant, en donnera une idée.

TABLEAU V.

Nature des vases ou fut gardée la salive	Durée de chauffe	19 heures	3 heures	16 heures
	Températures	45°	50°	50°
Platine	$\varphi =$	9,1	6,4	1,5
Quartz		10,1	8,0	—
Verre ordinaire		10,0	7,8	1,5
Témoin (Salive conservée à 20°)		12,9	13,05	13,05

La valeur de φ est dosée en milligrammes de glucose, après une heure de digestion, à 35°, sur la totalité d'un mélange contenant 10 cm³ d'empois d'amidon soluble de riz à 2% dans une solution de phosphates ($P_H^+ = -6{,}46$) salée à $2°/_{oo}$ plus 1 cm³ de l'une des salives, dont on étudie la conservation.

De cette étude rapide de l'action de la température sur la conservation du ferment, étude qui fait l'objet de recherches en cours de M. le professeur Ambard et de nous-mêmes, nous pouvons conclure qu'on devra conserver le ferment à une température inférieure à 35°, et que la température de 20° semble particulièrement favorable.

3° Influence de l'adjonction d'antiseptiques sur la conservation du ferment.

Les conditions de réaction de milieu, de température optima, étant observées, il faut encore pour conserver un ferment le mettre à l'abri de la putréfaction. Nous employons le thymol. Nous en déposons un cristal assez gros, au fond du millieu à conserver, et nous évitons les cristaux trop petits, qui se dissoudraient plus facilement. Ceci nous a permis de garder, pendant plusieurs mois, à la température du laboratoire (20°), des échantillons de salive, sans qu'ils perdent de façon appréciable, leur pouvoir catalyseur.

Nous avons rejeté l'emploi du fluorure de sodium, qui donne au milieu une réaction défavorable. En solution à 1%, concentration nécessaire pour obtenir un rôle antiseptique, dans de l'empois d'amidon soluble de riz, préparé avec la solution tampon $\frac{PO^4KH^2\ (9{,}078°/_{oo})}{PO^4Na^2H+2H^2O\ (11{,}87°/_{oo})} = \frac{7}{3}$ et salé avec NaCl à $2°/_{oo}$, le fluorure de sodium diminue la vitesse d'hydrolyse de cet amidon par la salive, ainsi qu'il suit :

Si nous portons, pendant une heure, au thermostat à 35°, 10 cm³ de l'empois d'amidon, susindiqué, plus 1 cm³ de salive dialysée et diluée, nous pourrons déceler la présence de 11 milligr. de glucose.

D'autre part, toutes choses étant égales, mais sans fluorure de sodium, la quantité de sucre produit est de 14,2 milligr. de glucose.

Il faut noter que NaFl à 1% dans l'eau distillée, examiné d'après la méthode de Sörensen, donne une réaction franchement acide, qu'on ramène à la neutralité, en remplaçant l'eau distillée par une solution tampon de phosphates.

Nous avons également éliminé le toluol, après les expériences suivantes :

6 tubes de quartz, contenant de la salive dialysée et diluée à $\frac{1}{60}$ dans une solution de phosphates $\frac{PO^4Na^2H+2H^2O(11,87°/_{oo})}{PO^4KH^2 \quad (9,078°/_{oo})} = \frac{3}{7}$ sont portés par groupe de 2, au thermostat, aux températures de 35°, 36°, 37°. A chacune de ces températures, un des tubes contient un cristal de thymol, et l'autre $\frac{1}{2}$ cm³ de toluol. Chaque tube est bouché et séjourne ainsi quarante heures. Après quoi, on prélève, dans chaque tube de quartz, 1 cm³ de salive, qu'on met en présence de 10 cm³ d'empois d'amidon soluble de riz à 2% et salé à 2°/$_{oo}$, dans la solution de $\frac{PO^4Na^2H+2H^2O(11,87°/_{oo})}{PO^4KH^2 \quad (9,078°/_{oo})} = \frac{3}{7}$

L'hydrolyse de cet empois a lieu pendant une heure, à 35°. Puis on dose le sucre formé sur la totalité du mélange.

La salive, portée à 35°, avec du thymol, donne 10,25 milligr. de glucose.
La salive, portée à 35°, avec du toluol, donne 3,1 milligr. de glucose.
La salive, portée à 36°, avec du thymol, donne 9,45 milligr. de glucose.
La salive, portée à 36°, avec du toluol, donne 1,0 milligr. de glucose.
La salive, portée à 37°, avec du thymol, donne 8,25 milligr. de glucose.
La salive, portée à 37°, avec du toluol, donne 1,0 milligr. de glucose.

On voit que chacune des salives, laissée en contact pendant quarante heures avec $\frac{1}{2}$ cm³ de toluol avait nettement perdu son activité, par rapport à celle qui avait été conservée, en présence du thymol.

Mais s'agit-il d'une destruction du ferment par le toluol que nous avions utilisé, ou bien ce dernier ne préserve-t-il pas le milieu de la putréfaction. Nous avons, pour répondre, laissé pendant soi-

xante cinq heures, à 35°, 15 cm³ de salive dialysée, diluée au $\frac{1}{50}$, dans laquelle nous avions placé un cristal de thymol et $\frac{1}{2}$ cm³ de toluol. Le flacon de quartz, qui contenait le tout, était bouché. Un tube témoin, à la même température, pendant le même temps, ne contenait qu'un cristal de thymol. Dosage de l'activité de 1 cm³ du ferment, en milligr. de sucre produit, en une heure, à 35°, en présence d'empois d'amidon soluble de riz à 2%+NaCl 2‰ dans solution $\frac{PO^4Na^2H\ (11{,}87°/_{oo})}{PO^4KH^2\ (9{,}078°/_{oo})} = \frac{3}{7}$. Le ferment, conservé avec thymol et toluol, donne 1,7 milligr. de sucre et le témoin, lui, donne 11,7. La chute considérable de la vitesse d'hydrolyse ne provient donc pas de la putréfaction du milieu, puisque les deux tubes contenaient le même cristal de thymol, capable de conserver l'activité du témoin, mais bien de la destruction du ferment par le toluol, dont nous nous sommes servis, ou de ses impuretés.

Nous pouvons conclure de ce qui précède, que, pour conserver l'amylase en solution dans les meilleures conditions possibles, nous la maintiendrons à l'abri de la lumière, dans un vase de verre d'Iéna ou de quartz, contenant une solution tampon, de concentration en ions H^+, voisine de — 6,46, solution réalisée par un mélange de phosphates $\frac{PO^4Na^2H+2H^2O\ (11{,}87°/_{oo})}{PO^4KH^2\ (9{,}078°/_{oo})} = \frac{3}{7}$.

Dans le milieu, on ajoutera un cristal de thymol, exempt de poussière cristalline du même corps. — La température ambiante sera de 20° environ.

B. *Fonctionnement optimum du ferment.*

Pour doser un ferment, il faut le mettre dans les conditions optima. Ces conditions sont encore sous la dépendance de la concentration du milieu en ions H^+, et aussi, de la concentration de l'électrolyte et de la nature de ce dernier.

Nous étudierons d'abord l'action des ions H^+ sur la création d'un milieu favorable à l'hydrolyse, puis, le rôle quantitatif des électrolytes.

1° Action des ions H^+ sur la création d'un milieu favorable à l'hydrolyse.

Pour l'optimum de conservation du ferment, nous trouvions une concentration en ions H^+ voisine de $P_H^+ = -6{,}46$. C'est cette même valeur que nous retrouvons pour la création du milieu le plus favorable à l'hydrolyse. Or, il sagit de deux influences distinctes des ions H^+.

Dans le premier cas, le tableau IV nous montre que, pour des concentrations ioniques, allant de — 5,28 à — 6,46, φ a varié de 9,3 — 8,0 = 1,3, soit environ 14%, en quinze heures à 35°. Nous pouvons admettre, qu'en une heure, à la même température, φ aurait varié de 1%, pour les mêmes écarts de réaction.

Or, nous avons fait des digestions d'empois d'amidon, de réactions différentes, ayant chacun même teneur en NaCl, en présence des mêmes quantités de salive, pendant le même temps et à la même température, une heure, à 35°. Nous avons trouvé que :

pour une réaction du milieu en $P_H^+ =$

— 5,28	$\Phi =$ 8,65
— 6,10	10,65
— 6,46	12,45
— 6,81	11,70
— 7,07	10,60

Il y a un écart de 12,45 moins 8,65 = 3,80, soit environ 30%, quand on passe du milieu optimum $P_H^+ = -6{,}46$ ou pessimum $P_H^+ = -5{,}28$, limites identiques aux précédentes. Dans le premier cas, destruction du ferment, correspondant à une diminution de la valeur de φ de 1% en une heure ; dans le deuxième cas, diminution de la valeur de φ de 30%, également en une heure ; et cela pour les mêmes valeurs comprises entre $P_H^+ = -6{,}46$ et $P_H^+ = -5{,}28$.

Il s'agit donc bien de deux influences distinctes des ions H^+.

Nos conclusions concordent avec celles de L. Michaelis et H. Pechstein[1]). Ces deux auteurs ont, comme nous, étudié les conditions d'action de la diastase salivaire, avec des procédés différents. Ils ont utilisé, comme nous, la salive humaine, filtrée

---

[1]) L. Michaelis et H. Pechstein : (Biochemische Zeitschrift, 1914, vol. 59, pages 77-99).

et dialysée à 1 ou 10%, qu'ils ont fait agir sur de l'amidon soluble à 1%, bouilli dans l'eau distillée et dialysé pendant quelques jours. Ils ont effectué leurs recherches à 18°. Ils arrêtaient leurs réactions, en fixant l'excès d'amidon par l'iode, et, sans chercher à doser le sucre produit, ils se contentaient de comparaisons colorimétriques entre les différentes colorations, que donnait l'iode à leurs milieux, après la digestion.

Ils ont cherché l'optimum de concentration des ions H^+ pour l'hydrolyse de l'amidon par la salive, en milieu de phosphates de Sörensen, et ont trouvé cet optimum pour $P_H^+ = -6{,}1$. Nous trouvons, nous, un optimum un peu moins acide $P_H^+ = -6{,}46$.

Rien n'est plus facile que la détermination de l'optimum de ces concentrations en ions H^+, en appliquant la méthode de Sörensen. Il suffit de prendre du phosphate disodique $PO^4Na^2H^+2H^2O$, dont on fait, dans l'eau distillée, une solution à 11 gr. 87 pour 1000, et du phosphate monopotassique PO^4KH^2, dont on fait, de même, une solution à 9 gr. 078 pour 1000. A l'aide de ces deux solutions, on constitue des mélanges, en faisant varier la proportion de chacun des phosphates ; comme, par exemple : solution de PO^4Na^2H : 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4 ; pour solution de PO^4KH^2 : 7,5 ; 7 ; 6,5 ; 6. Chacun de ces mélanges correspond à une table, publiée dans : Ergebnisse der Physiologie (1912, tome XII, pp. 393-533), qui indique la concentration correspondante en P_H^+ des ions H^+ du milieu. On peut d'ailleurs vérifier cette valeur de P_H^+ par la méthode colorimétrique indiquée également par Sörensen.

Dans ces solutions, on porte, à concentration connue, le ferment dont on veut chercher l'optimum. On prend 1 cm³ de ces différentes dilutions et on les met en présence d'empois d'amidon identique à 2% par exemple, salé à 2°/₀₀, par exemple. On laisse le tout au thermostat à 35°, pendant une heure. On dose le sucre produit. Le mélange, où le sucre dosé est le plus important, indique celui pour lequel le milieu de concentration des ions H^+ était le plus favorable.

En voyant l'importance du rôle de ces ions H^+ sur la conservation du ferment d'abord, sur la création d'un milieu favorable

à son action, ensuite, on peut se demander, s'ils n'ont aucune action sur le processus même de l'hydrolyse.

2° Action des ions H^+ sur le processus même de l'hydrolyse.

Les ions H^+ sont-ils capables de servir d'activants au cours de l'hydrolyse par l'amylase ? Autrement dit, certains acides pourraient-ils remplacer les sels neutres, dont nous allons étudier l'action quantitative ?

Nos expériences, assez nombreuses à ce sujet, nous permettent de le nier. Si certains acides, HCl par exemple, peuvent provoquer une légère activation, c'est vraisemblablement par action de leur anion monovalent, que nous retrouverons, comme très actif, dans les seuls neutres, à anion semblable.

Nous avons procédé comme précédemment. Nous faisons un mélange d'empois d'amidon à 2%, 10 cm^3 + 1 cm^3 de salive dialysée et diluée au $\frac{1}{16}$ + quantités variables d'acide + H^2O q. s. pour 16 cm^3. Après quoi, nous maintenons le mélange à 35°, pendant une heure. Nous dosons le sucre sur la totalité.

Pour HCl, en faisant varier les quantités d'acide, dans le milieu, de $\frac{1}{10}$ cm^3 de solution $\frac{N}{1000}$ à $\frac{1}{2}$ cm^3 $\frac{N}{200}$, nous avons trouvé un maximum de 1 mgr. 15 de glucose pour 0,2 cm^3 de HCl $\frac{N}{200}$.

L'acide acétique, étudié dans les mêmes conditions, entre $\frac{1}{10}$ cm^3 $\frac{N}{1}$ et $\frac{1}{10}$ cm^3 $\frac{N}{100}$, donne un maximum de 0 mgr. 35 de glucose pour une quantité de 1 cm^3 $\frac{N}{100}$ dans le milieu d'hydrolyse.

Quant à SO^4H^2, de $\frac{1}{10}$ cm^3 $\frac{N}{10}$ à $\frac{1}{10}$ cm^3 $\frac{N}{1000}$, il ne nous a jamais produit aucune activation.

Encore que ces expériences ne présentent pas une précision désirable, à cause de l'action possible de l'alcalinité du verre, elles nous prouvent que les ions H^+ sont inaptes à déclancher l'hydrolyse par l'amylase. Un acide ne peut activer qu'en fonction de son anion monovalent, mais à un taux trop élevé pour

qu'alors la destruction du ferment par l'ion H^+ correspondant ne se fasse pas sentir.

Nous pensons avoir ainsi exposé, en les dissociant, les trois sortes d'actions de l'ion H^+ dans l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase :

Rôle indispensable à la bonne conservation du ferment, à l'obtention du maximum de rendement d'un milieu de digestion, et cela, dans des limites précises, déterminées plus haut ; rôle enfin négatif dans le processus même de l'hydrolyse.

3° Rôle quantitatif des électrolytes.

Nous examinerons, dans ce chapitre, dans quelle proportion l'électrolyte agit sur la matière à hydrolyser, autrement dit, dans quelle proportion la matière à hydrolyser sera sensibilisée en fonction de la concentration d'un sel.

Nos expériences seront réglées de la façon suivante : à une quantité constante d'empois d'amidon à 2%, soit 10 cm³, nous ajouterons des quantités croissantes de sel, en présence d'une quantité constante de ferment, soit 1 cm³ de salive $\frac{1}{8}$. Nous compléterons le mélange à 15 cm³ avec de l'eau distillée. La digestion aura lieu à 35°. Le dosage du sucre produit sera fait sur la totalité du mélange.

TABLEAU VI.

NaCl à 0,0048 °/₀₀	Durée de la digestion	Sucre produit en milligr.	Sucre produit recalculé pour 2 heures	Sucre produit défalcation faite de l'exp. 1
Exp. 1.. 0 cm³	8 heures	2,85	0,71	
Exp. 2.. 1 »	8 »	9,1	2,27	1,56
Exp. 3.. 2 »	3 h. 40 m.	8,95	4,97	4,26
Exp. 4.. 3 »	2 heures	7,1	7,10	6,39
Exp. 5.. 4 »	2 »	9,3	9,30	8,59

Cette série d'expériences nous montre que, pour des quantités très faibles de NaCl, $\frac{0{,}0048°/_{00}}{16}$ à $\frac{0{,}0192°/_{00}}{16}$; soit de $0{,}0003°/_{00}$ à $0{,}0012°/_{00}$, φ croît proportionnellement aux quantités de NaCl, ajoutées aux milieux, aux erreurs d'expériences près. En effet, si nous retranchons au résultat de l'exp. 5 la quantité de sucre

produit, sans apport de sel, erreur due vraisemblablement à une épuration insuffisante de la salive, nous trouvons = 8,59 milligr. de glucose, produits par suite de l'apport de 4 cm³ de NaCl. Pour 1 cm³ de NaCl, nous devrions obtenir 8,59 : 4 = 2,14. Pour 2 cm³ : 2,14 × 2 = 4,28. Pour 3 cm³ : 2,14 × 3 = 6,42. Résultats qui cadrent assez bien avec les chiffres obtenus expérimentalement.

Mais quand les concentrations de l'électrolyte varient dans de plus fortes proportions, on observe un phénomène différent. φ, qui, pour des concentrations faibles de NaCl, croissait proportionnellement à ces concentrations, augmente moins vite, atteint un maximum en plateau, pour une valeur de NaCl = $\frac{5\,°/_{oo}}{16}$ puis diminue, dès que la concentration de NaCl atteint $\frac{20\%}{16}$ Ceci est vrai dans le cas où amidon et salive ont été préparés avec de l'eau distillée. Les variations de φ, en fonction des concentrations salines, se traduisent donc par une courbe d'allure parabolique.

Le tableau suivant nous montre ces variations de φ, en fonction de quantités croissantes de NaCl, allant de $\frac{0{,}019\,°/_{oo}}{16}$ à $\frac{80\,°/_{oo}}{16}$. Les expériences sont faites, en portant, à 35°, pendant une heure, 10 cm³ d'empois d'amidon + 1 cm³ de salive dialysée à $\frac{1}{16}$ + les quantités croissantes de NaCl, seul facteur variable. Le tout est complété à 16 cm³ avec de l'eau distillée.

TABLEAU VII.

NaCl 1 cm³	Sucre exprimé en milligr. de glucose
0,019 °/oo	1,30
0.077 »	3,40
0,31 »	6,70
1,25 »	8,30
5,00 »	8,70
20,00 »	7,45
80,00 »	6,20

Or, nous pourrions multiplier ces exemples. La même courbe, d'allure parabolique, se retrouve pour les autres électrolytes, avec des maximums plus ou moins élevés. Nous avons ainsi étudié l'action de NH^4Cl, LiCl, NaCl, $CaCl^2$, $BaCl^2$, $HgCl^2$, NaBr, NaI, NaF, dont le graphique ci-joint exprime les résultats.

L'action respective des ions des sels neutres a été étudiée par V. Henri et Bierry, qui l'ont, les premiers, signalée. Ces auteurs ont vu que, seuls, les sels à anion monovalent, et parmi eux, surtout les chlorures, étaient activants. Nous n'avons pu que confirmer ces résultats.

Nous attirons l'attention sur le rôle curieux de $HgCl^2$. L'expérience est faite dans des conditions habituelles :

amidon de maïs 2%, 10 cm³ + salive dialysée au $\frac{1}{16}$, 1 cm³ + H^2O q. s. pour 16 cm³ + quantités variables de $HgCl^2$.

TABLEAU VIII.

$HgCl^2$ 1 cm³	Sucre exprimé en milligr. de glucose
0,001 °/₀₀	0,6
0,005 »	1
0,01 »	2,2
0,02 »	2,85
0,1 »	0,5
1,0 »	0,1

On voit à quelles concentrations, remarquablement faibles, agit ce sel, puisque son action commence à se faire sentir à la concentration de $\frac{0{,}001\,°/_{00}}{16}$ soit $0{,}00006\,°/_{00}$ et que, dès qu'il a atteint une concentration de $\frac{0{,}1\,°/_{00}}{16}$ soit $0{,}006\,°/_{00}$, la production de sucre n'est plus appréciable.

Les sels à anion multivalent, que nous avons étudiés, se sont montrés inactifs : sulfates, phosphates, bicarbonates.

Pour les sulfates, inactivité complète, pour des concentrations de sel, allant, dans le milieu, de $0{,}078\,°/_{00}$ à $20\,°/_{00}$. Expériences répétées pour SO^4Na^2 et SO^4Mg.

Pour les phosphates, même résultat. Nous avons fait trois solutions :

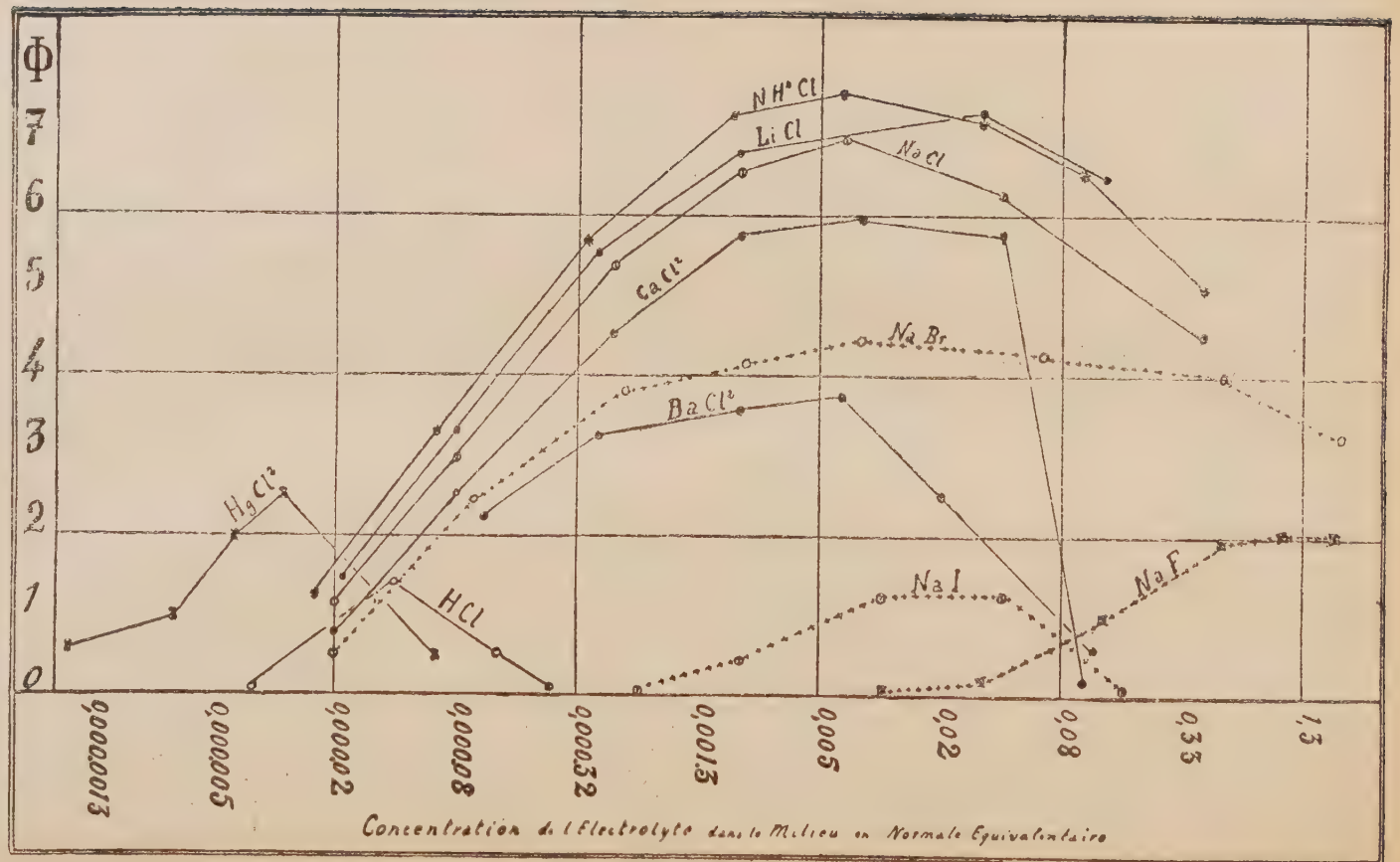
A — contenant PO^4KH^2 à 9 gr. 08 °/₀₀ dans H^2O distillée.

B — contenant $PO^4Na^2H + 2H^2O$ à 11 gr. 9 °/₀₀ dans H^2O distillée.

C — contenant un mélange de $\frac{7\,A}{3\,B}$.

En présence de 10 cm³ d'amidon de riz lavé à 2 % + 1 cm³ de salive dialysée, diluée au $\frac{1}{20} + H^2O$ q. s. pour 16 cm³, 1 cm³ de A, ou de B ou de C, ou de $\frac{C}{10}$ ou de $\frac{C}{100}$ n'a jamais permis de constater une hydrolyse quelconque. Nous avons donc conclu que l'ion PO^4 n'active pas, dans ces conditions, ni en milieu neutre, ni en milieu acide, ni en milieu alcalin, puisque les concentrations respectives des ions H^+ sont de $P^+_H = -4,5$ pour A. $P^+_H = -9,2$ pour B. $P^+_H = -7,16$ pour C. Cette constatation a pour nous une grande importance, comme nous le verrons dans la suite.

Quant aux bicarbonates, ils sont restés inactivants, à des concentrations qui ont varié, dans le milieu, entre $\frac{0,077\,°/_{00}}{16}$ et $\frac{80\,°/_{00}}{16}$.


Φ
7
6
5
4
3
2
1
0
NH⁴Cl
Li Cl
Na Cl
Ca Cl²
Na Br
Ba Cl²
Hg Cl²
HCl
Na I
Na F
0,0000013
0,0000025
0,000002
0,000008
0,000032
0,00013
0,0005
0,02
0,08
0,33
1,3
Concentration de l'Electrolyte dans le Milieu en Normale Equivalentaire

LÉGENDE EXPLICATIVE.

Φ désigne la vitesse d'inversion : celle-ci est fonction de la concentration de l'électrolyte dans le milieu.

Sur ce graphique, nous n'avons pas indiqué les expériences complètement négatives, telles que la non activation par les sulfates et les phosphates.

On remarquera que les électrolytes, ayant l'anion commun (Cl) manifestent une action activante, à des concentrations sensiblement identiques, tandis que les électrolytes, dont l'anion est différent, ne la manifestent qu'à des concentrations différentes.

Pour marquer cette distinction, nous avons dessiné en traits pleins les valeurs de φ en fonction des concentrations d'électrolytes ayant un anion commun, et, en pointillé, les valeurs de φ en fonction des concentrations d'électrolytes à anions différents.

NaF, LiCl et NH^4Cl, donnant une réaction légèrement acide, nous avons comparé les vitesses d'inversion, obtenues avec ces sels, d'abord en solutions dans l'eau distillée, et ensuite dans une solution de phosphates $P\frac{+}{H} = -6{,}45$ (de manière à y amener la réaction du milieu sensiblement à cette dernière valeur.) Les valeurs, indiquées pour φ, ont été, pour les sels précités, celles qui ont été observées en milieu phosphatique, lorsque les valeurs obtenues, en milieu, purement aqueux, étaient inférieures aux précédentes.

L'écart des valeurs n'a d'ailleurs était trouvé notable que pour NH^4Cl, aux concentrations supérieures à 0,08.

Application à la recherche du sel présent dans la salive ou l'amidon, à faible concentration.

Ce qui précède nous permet de trouver la quantité de NaCl, contenue dans un milieu, que nous croyons presqu'exempt de sel.

Prenons, par exemple, 10 cm³ d'empois d'amidon lavé à 2%. Mettons-les au contact d'un cinquantième ou d'un centième de cm³ de salive dialysée. Nous obtiendrions une vitesse, φ, d'hydrolyse, pendant une heure à 35°, excessivement faible, soit 0 milligr. 3 de sucre.

Répétons la même expérience, en ajoutant 1 cm³ de salive dialysée, tuée par l'ébullition. Cette salive sera inactive, mais, si elle contient encore des sels, nous verrons leur action s'ajouter à celle, à peine présente dans l'expérience précédente. Supposons que φ devienne, de ce fait, égal à 0 milligr. 6 de sucre.

Enfin, refaisons encore la première expérience, en ajoutant 1 cm³ de NaCl à 0,005°/$_{oo}$; la quantité de sucre obtenue sera, supposons, de 3 milligr.

Nous savons que toutes choses étant égales du côté du ferment, la quantité d'amidon sensibilisé, ou, ce qui revient au même, φ, est proportionnel à la concentration de NaCl. Nous pouvons écrire que : 1 cm³ de NaCl à 0,005°/$_{oo}$ a provoqué la formation de :

3 milligr. — 0 milligr. 3 = 2 milligr. 7 de sucre.

Donc 1 cm³ de salive cuite, qui a provoqué la formation de :

0 milligr. 6 — 0 milligr. 3 = 0 milligr. 3 de sucre,

contient : $\frac{0,005 \times 0,3}{2,7} = 0,00064$°/$_{oo}$, exprimé en NaCl.

4° Rôle du mélange de deux électrolytes.

Nous n'avons pas passé en revue tous les cas d'addition de deux électrolytes, au lieu d'un seul, à nos milieux de digestion ; mais, des quelques cas que nous avons étudiés, il nous semble possible de penser, jusqu'à preuve du contraire, que l'addition d'un électrolyte à la quantité de NaCl, capable de donner à φ sa valeur maxima, toutes choses restant égales du côté de l'amidon et du côté du ferment, n'augmente pas cette valeur maxima.

1. Soit un mélange de 10 cm³ d'empois d'amidon lavé + 1 cm³ de salive dialysée, au $\frac{1}{16}$ + 1 cm³ de NaCl à 5 °/₀₀ + H^2O q. s. pour 16 cm³. Ce mélange nous donne, en une heure, à 35°, 7 milligr. 4 de glucose. Si, dans une seconde expérience, en maintenant tout constant, nous ajoutons 1 cm³ de NaBr à 1,25 °/₀₀, nous trouvons, en une heure, à 35°, 7 milligr. 4 de glucose. Donc, pas de modification.

2. Soit encore un mélange de 10 cm³ d'empois d'amidon à 2% + 1 cm³ de salive dialysée au $\frac{1}{16}$ + 1 cm³ de NaCl à 5 °/₀₀ + H^2O q. s. pour 16 cm³. En une heure, à 35°, ce mélange donne 7 milligr. 4 de glucose. Dans une seconde expérience, ajoutons 1 cm³ de solution de SO^4Na^2 à 20 °/₀₀ ; le sucre, formé au bout d'une heure, à 35°, sera de 7 milligr. 15. Dans une troisième expérience, ajoutons à un mélange, identique à celui de la première expérience, 1 cm³ de SO^4Na^2 à 1,25 °/₀₀ ; le sucre formé, au bout d'une heure, à 35°, est de 7 milligr. 35. Donc SO^4Na^2, qui, seul est inactif n'a pas modifié l'action de NaCl, ni dans le sens de l'augmentation, ni dans le sens empêchant.

3. Les phosphates, comme nous l'avons vu, ne sont pas activants pour leur propre compte ; mais, si nous faisons un mélange de :

10 cm³ d'empois d'amidon de riz lavé à 2% dans une solution de $\frac{PO^4Na^2H + 2H^2O\,(11,87\,°/_{00})}{PO^4KH^2\,(9,078\,°/_{00})} = \frac{3,5}{6,5}$ + 1 cm³ de salive dialysée et diluée au $\frac{1}{20}$ dans la même solution de phosphates, + 1 cm³ de NaCl de concentrations variables avec chaque expérience + H^2O q. s. pour 16 cm³, nous trouvons, qu'en une heure, à 35°, la vitesse d'hydrolyse maxima, au lieu d'être obtenue avec la concentration de NaCl = $\frac{5\,°/_{00}}{16}$, est obtenue avec une concentration de NaCl = $\frac{20\,°/_{00}}{16.}$

Il semble donc que la présence des phosphates ait élevé la valeur de la concentration de NaCl nécessaire pour obtenir le maximum de la vitesse d'hydrolyse, toutes autres choses étant égales.

4. Le fluorure de sodium, à la concentration de 1%, ajouté à un empois d'amidon soluble de riz, à 2% et contenant NaCl à 2°/$_{oo}$, dans une solution de $\frac{PO^4Na^2H + 2H^2O\ (11{,}87°/_{oo})}{PO^4KH^2\ (9{,}07°/_{oo})} = \frac{3}{7}$ s'est montré empêchant, bien loin d'additionner son action à celle de NaCl. En effet, 10 cm^3 du mélange précédent, sans NaFl donnent, en une heure, à 35°, 14 milligr. 2 de glucose. Si nous ajoutons NaFl à 1%, et que nous conservions les mêmes conditions d'expérience que précédemment, nous trouvons 11 milligr. de glucose.

5. Nous prendrons enfin le cas où on ajoute le second électrolyte à un milieu contenant NaCl, à une concentration inférieure, à celle capable de donner à φ sa valeur maximum.

Soit un mélange de 10 cm^3 d'empois d'amidon de riz lavé à 2% dans la même solution de phosphates tampons que plus haut + 1 cm^3 de salive dialysée à $\frac{1}{60}$ + 1 cm^3 de NaCl à 0,31°/$_{oo}$, + H^2O q. s. pour 16 cm^3. En une heure, à 35°, on trouve 7 milligr. 4 de glucose.

Remplaçons le cm^3 de NaCl par 1 cm^3 de $CaCl^2$ à 0,31°/$_{oo}$, en laissant toutes autres choses égales. Au bout du même temps et à la même température, on trouve 5 milligr. 2 de glucose.

Si enfin, dans une troisième expérience, nous ajoutons 1 cm^3 de NaCl à 0,31°/$_{oo}$ + 1 cm^3 $CaCl^2$ à 0,31°/$_{oo}$, en laissant toutes autres choses égales, nous trouvons 8 milligr. 2 de glucose.

Sans qu'il y ait eu addition des actions particulières de NaCl et de $CaCl^2$, il y a eu pourtant une légère augmentation de la valeur de φ. Mais nous rappelons que NaCl était à une concentration de $\frac{0{,}31°/_{oo}}{16}$ et que le maximum de φ apparaît pour une concentration de NaCl = $\frac{20°/_{oo}}{16}$.

L. Michaelis et H. Pechstein, dans leur mémoire, cité plus haut, ont, eux aussi, étudié l'influence de NaCl — KCl — Na^2SO^4 — $NaNO^3$, et ont trouvé une action favorable de l'ion Cl, beaucoup moins favorable de NO^3 et nulle de SO^4. Puis, prenant d'autres sels, ils ont conclu que les sels à cathion divalent Ca, Mg, agissent mieux que les cathions monovalents

N et K ; ce qui n'est pas d'accord avec nos résultats. (Voir le graphique, page 36). Ils ont classé l'action des électrolytes dans le sens décroissant suivant : $CaCl^2$ — $MgCl^2$ — NaCl — KCl — NaBr — NaI — $NaNO^3$ — Na^2SO^4.

Sur l'action des mélanges de sels, ils ont pensé que NO^3Na était empêchant pour NaCl ; puis ils ont additionné différents sels entre eux, et, sans donner de résultats, précisés par dosage du sucre produit dans l'hydrolyse observée, ils ont dit que l'activation s'approche, dans les mélanges de sels, de l'action de celui qui est le plus concentré.

Ceci est à rapprocher de notre opinion : Nous pensons que l'addition d'un sel à NaCl, à son optimum de concentration, ne peut faire dépasser la valeur de φ, obtenue pour cet optimum.

5° Conclusion de l'étude de l'action des électrolytes sur le fonctionnement optimum du ferment.

Pour une certaine valeur de la concentration du milieu d'hydrolyse en électrolyte, φ atteint un maximum, qui reste en plateau, jusqu'à une nouvelle valeur de cette concentration, assez éloignée de la première ; après quoi la courbe s'abaisse.

Cette concentration optima de l'électrolyte, s'étend, pour NaCl, entre $1\,°/_{oo}$ et $2\,°/_{oo}$. C'est donc elle que nous devrons choisir pour obtenir le fonctionnement optimum du ferment. Nous nous sommes arrêtés à une concentration en NaCl, de $2\,°/_{oo}$.

Nous voyons, d'autre part, que si, entre les valeurs de concentration de l'électrolyte, qui limitent ce plateau de φ, nous faisons varier la quantité de l'électrolyte nous ne modifions pas la valeur de φ.

Cette conclusion présentera une grande importance, quand, pour étudier φ, en fonction d'une autre variable, telle que des doses croissantes de ferment, nous voudrons pouvoir négliger un apport concommittant d'une petite quantité de sels. Il suffira d'étudier cette variable dans un milieu contenant un électrolyte, de concentration égale à celle pour laquelle on atteint e plateau, soit $2\,°/_{oo}$ en NaCl.

Et la liberté d'action devient plus grande encore, si un nouveau sel, ajouté à un mélange contenant NaCl, à la concentration optima, ne modifie pas la valeur de φ. C'est en général ce que nous avons constaté, en nous réservant de compléter ultérieurement cette étude.

III.

Etude de quelques questions de technique.

A. *Préparation de l'empois d'amidon.*

Nous avons vu, dans l'étude théorique de la loi d'action de l'amylase sur l'amidon, l'importance du facteur C_1, dans l'équation $\varphi = k\ (C_1 \times C_2)$, c'est-à-dire de l'amidon actif. Ce dernier varie, en raison de la concentration de l'électrolyte du milieu, et aussi en raison de la concentration de la masse totale de l'amidon. Donc, pour doser le ferment, c'est-à-dire C_2, en fonction du sucre formé, φ, il faut d'une part, et nous avons établi ce fait, conserver à son optimum de concentration l'électrolyte, par exemple NaCl, fixe : mais, de plus, il faut que la masse totale de l'amidon soit toujours la même. Nous avons choisi une concentration de 2% d'empois d'amidon. A ce taux, l'empois peut être obtenu très homogène et assez fluide pour la commodité des expériences.

Il est important de fixer, dans des expériences comparatives, la nature de l'hydrate de carbone employé, car, si le glycogène donne les mêmes résultats que l'amidon de riz, par exemple, tous les amidons que nous avons essayés, ne se sont pas montrés exactement équivalents, qu'il s'agisse de leur nature propre ou des impuretés qu'ils peuvent contenir.

De l'amidon de maïs, de riz, de blé, de bois, de haricot, d'arrow-root, de pomme de terre, dont nous avons fait, dans les mêmes conditions, des empois à 2%, et que nous avons fait digérer par un même ferment, (salive dialysée $\frac{1}{16}$) dans un milieu de même concentration saline (1 cm³ NaCl à 5‰), sous un même volume, (16 cm³) pendant une heure, à 35°, ont donné des quantités de sucre, exprimées en milligrammes de glucose,

qui étaient respectivement de 13,1 pour le maïs ; 15,3 pour le riz ; 9,35 pour le blé ; 13,2 pour le pois ; 7,4 pour le haricot ; 17 pour l'arrow-root ; 8,8 pour la pomme de terre. Il faut évidemment tenir compte des impuretés de ces farines.

Dans nos recherches, nous avons choisi, soit l'amidon de maïs, soit l'amidon de riz, l'un et l'autre fort commodes. Nous avons utilisé aussi l'amidon de riz, rendu soluble par une attaque ménagée par un acide, en milieu alcoolique.

L'empois d'amidon soluble est le plus homogène.

Pour débarrasser l'amidon de ses sels, avant de l'utiliser, précaution indispensable dans l'étude de l'action des électrolytes sur l'hydrolyse par l'amylase, nous procédons par lavages avec de l'eau distillée à 60°. Nous laissons en contact, pendant une heure, en agitant fréquemment. Nous débarrassons l'amidon de son eau de lavage par filtration sur filtre de Buchner, et nous recommençons cette opération trois fois de suite. Pratiquement, un tel amidon se montre exempt de sel, et en particulier de NaCl.

L'amidon, étant exempt de sel, nous le transformons en empois, par cuisson au bain-marie à l'ébullition, pendant cinq minutes. La température, à laquelle est porté l'empois, ne joue d'ailleurs aucun rôle sur l'hydrolyse, dans les limites suivantes :

Nous avons fait, avec de l'amidon de riz lavé, un empois à 2%, dans une solution de phosphates $\frac{PO^4Na^2H+2H^2O\ (11,87\,^0/_{00})}{PO^4KH^2\ (9,078\,^0/_{00})} = \frac{3}{7}$ à laquelle nous ajoutions NaCl à 2%. Un échantillon A fut porté à 75° (température de l'empois) pendant dix minutes ; un échantillon B à 85°, un échantillon C à 96°, pendant le même temps ; et enfin, un échantillon E à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. 10 cm³ de chaque échantillon, refroidi, mis en présence du même ferment, en quantité constante, pendant une heure, au thermostat à 35°, nous ont donné les chiffres suivants de sucre produit, exprimé en milligrammes de glucose :

pour A	12,7
pour B	12,7
pour C	12,65
pour D	12,5

On voit que, dans les limites de 75° à 120°, la température à laquelle a été porté l'empois pendant dix minutes ne joue aucun rôle.

Nous n'avons donc pas à nous attarder sur les conditions de préparation de l'empois d'amidon utilisé, pourvu qu'il soit toujours de même nature, et à la même concentration dans des expériences comparatives.

B. *Préparation de la salive dialysée.*

Dans nos expériences, nous avons utilisé la salive humaine, filtrée et dialysée pour la débarrasser de ses sels.

Nous dialysions la salive dans des sacs de collodion, fixés à l'extrémité de tubes à essais sans fond, en présence de thymol. Ces tubes étaient agités mécaniquement, à un rythme constant, et exécutaient des plongées successives dans le liquide, contre lequel s'opérait la dialyse.

A chacune de ces plongées, la salive contenue dans les sacs était comprimée et décomprimée, ce qui produisait un brassage dont résultait le mélange du contenu des sacs et de celui des tubes. D'où, accélération considérable de la dialyse.

Nous cessions, quand un échantillon de salive, prélevé des tubes agités, ne donnait plus trace de louche, en présence de NO^3Ag. Ce qui avait lieu généralement, au bout de dix à douze heures.

Une salive dialysée dans ces conditions, est prête à l'usage. Il suffit de la diluer en proportions convenables dans un mélange de phosphates tampons, de concentration en P_H^+ optima. Nous nous servons, comme nous avons dit, d'une solution de $\frac{PO^4Na^2H + 2H^2O\ (11{,}87\,^0/_{00})}{PO^4KH^2\ (9{,}078\,^0/_{00})} = \frac{3}{7}$.

Le même procédé de dialyse pourra servir pour d'autres liquides de l'organisme.

C. *Marche générale d'une digestion par l'amylase salivaire. Dosage du sucre produit.*

On porte, au thermostat à 35°, pendant une heure, dans des vases de verre d'Iéna, ou de quartz, un mélange composé de

10 cm³ d'empois d'amidon salé[1]) à 2 °/₀₀, préparé dans la solution de phosphates de concentration en ions H^+ optima, plus la solution de ferment dilué, à étudier, + H^2O distillée, pour compléter, dans chaque expérience le volume total à un chiffre constant soit, par exemple, 16 cm³.

Au bout d'une heure, on arrête la digestion avec deux gouttes de soude au $\frac{1}{4}$. On ajoute dans chaque vase, 10 cm³ de liqueur de Fehling. On transvase dans les tubes d'une machine à centrifuger. On porte ces tubes au bain-marie, qu'on laisse bouillir pendant cinq minutes. On refroidit le plus vite possible. On centrifuge. On décante, en gardant au fond des tubes le précipité d'oxydule de cuivre qu'on lave à l'eau distillée deux ou trois fois, après centrifugation et décantation successives. Ceci fait, on dissout l'oxydule dans du sulfate ferrique, et on dose à l'aide du permanganate de potasse, suivant la méthode indiquée par Bertrand[2]). La quantité de permanganate, lue sur la burette de Mohr, permet de calculer la quantité correspondante de sucre, exprimé en milligrammes de glucose.

---

[1]) Formule de l'empois d'amidon soluble de riz salé, que nous employons.

Amidon soluble de riz	40 grammes
NaCl	4 »
$\frac{PO^4Na^2H+2H^2O\ (11{,}87\ °/_{oo})}{PO^4KH^2\ (9{,}078\ °/_{oo})} = \frac{3}{7}$	q. s. pour 2000 »

L'empois est cuit au bain-marie bouillant pendant une heure. Après refroidissement, on ajoute un sachet de toile fine, bien lavée, contenant quelques cristaux de thymol.

Cet empois se conserve pendant plusieurs semaines.

[2]) Gabr. Bertrand — P. Thomas: Guide pour les manipulations de Chimie-biologique. Paris, 1913 (pages 85-90.)

CONCLUSIONS

En reprenant l'étude de la «Loi d'action de l'amylase sur l'amidon au début de la réaction» nous avons pu, dans l'exposé théorique de cette thèse :

1° Retrouver une proportionnalité exacte entre la valeur φ, de la vitesse d'hydrolyse et la concentration du ferment, toutes autres choses étant égales. La loi des masses : $\varphi = k\ (C_1 \times C_2)$ se vérifie ;

2° En présence du désaccord qui existe entre la valeur de φ et la concentration C_1 de l'amidon, quand seul cet amidon varie, nous avons cherché à interpréter C_1 par la notion de «masse active», par analogie avec l'hypothèse d'Arrhénius, dans le cas de l'hydrolyse par les acides.

C_1 ne représente donc pas l'amidon total du milieu d'hydrolyse, mais seulement l'amidon sensibilisé par l'électrolyte.

Dans l'exposé pratique, qui fait suite, nous avons cherché à montrer les conditions optima de conservation de l'amylase salivaire, et aussi les conditions optima de son action, pour pouvoir arriver à un dosage régulier de ce ferment.

On pourra faire ce dosage, avec une grande précision, en observant les conditions suivantes :

1° réaction optima du milieu $= P_H^+ = -6{,}46$;

2° adjonction de NaCl à $2\,‰$ dans le milieu de digestion ;

3° choix d'une concentration fixe d'amidon — environ 2% ;

4° usage du thymol, comme antiseptique.